

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

С. С. Скринаус, С. С. Лазуко, О. П. Кужель

ВЛИЯНИЕ ЭНАЛАПРИЛА НА ЭНДОТЕЛИЙЗАВИСИМУЮ ДИЛАТАЦИЮ ИЗОЛИРОВАННОГО КОЛЬЦА АОРТЫ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ЭНДОТЕЛИЯ К АЦЕТИЛХОЛИНУ

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет

Целью исследования было выяснить влияние эналаприла на эндотелийзависимую вазодилатацию изолированного кольца аорты крыс и чувствительность эндотелия к ацетилхолину. Опыты проводили на препаратах изолированного кольца аорты крыс линии Вистар. На фоне предварительного введения в перфузионный раствор эналаприла (7×10^{-6} г) ацетилхолинзависимая вазодилатация начиналась при более низкой концентрации ацетилхолина, а максимальная вазодилатация была выражена в большей степени, чем в контрольной группе животных. Концентрация ацетилхолина, вызывающая полумаксимальную дилатацию кольца аорты (EC_{50}), после действия эналаприла снижалась по сравнению с контролем ($p < 0,05$), что свидетельствует о повышении чувствительности эндотелиоцитов к ацетилхолину.

Ключевые слова: эналаприл, эндотелий, монооксид азота.

ВВЕДЕНИЕ

Дисфункцию эндотелия в настоящее время рассматривают как один из важнейших факторов риска острых коронарных синдромов [1], атеросклероза [2] и артериальной гипертензии [3]. Известно, что формирование артериальной гипертензии сопряжено не только с утратой адекватного контроля за состоянием сосудистого тонуса, но и ассоциируется с нарушением релаксационных свойств эндотелия.

Впервые нарушение эндотелийзависимого (NO-зависимого) расслабления сосудов при гипертензии продемонстрировали М. Konishi и Su в 1983 году [4]. Также уменьшение эндотелийзависимого расслабления было обнаружено у животных при разных моделях гипертензии и у людей, страдающих эссенциальной, реноваскулярной и другими формами гипертензии [4]. Такое нарушение эндотелийзависимой вазодилатации вносит вклад в увеличение тонуса сосудов, а в итоге – в поддержание повышенного артериального давления. Угнетение эндотелийзависимого расслабления сосудов в значительной степени связано с абсолютным или относительным дефицитом эндотелиального монооксида азота (NO), который проявляется снижением концентрации нитритов и нитратов в

плазме крови и в моче [5]. Дефицит монооксида азота при гипертензии может быть обусловлен снижением активности эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) [4–6], разрушением или захватом монооксида азота свободными радикалами [3] и/или ослаблением действия монооксида азота на гладкую мышцу. Стимулирование эндогенного синтеза монооксида азота при гипертензии в значительной степени нормализует эндотелийзависимое расслабление и снижает артериальное давление [5]. При изучении роли NO в регуляции системного артериального давления было показано, что внутривенное введение ацетилхолина вызывает снижение артериального давления и увеличение экскреции цГМФ с мочой [4].

Установлено, что ренин-ангиотензин-альдостероновая система занимает ключевую роль в регуляции функции сердечно-сосудистой системы и почек. Активация этой системы приводит к повышению артериального давления за счет возрастания объема циркулирующей крови и увеличения активности других вазоконстрикторных факторов [1].

На сегодняшний день существует множество данных, свидетельствующих об улучшении функции эндотелия на фоне применения различных классов антигипер-

пертензивных средств. При этом механизм их влияния на эндотелий различен.

Лекарственными средствами, благоприятно влияющими на нарушенную функцию эндотелия, являются ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, антиоксиданты (α-токоферол, аскорбиновая кислота), статины. В последнее время в качестве средств коррекции нарушенной функции эндотелия при хронической сердечной недостаточности апробируются β-блокаторы III поколения [7].

Уже показано, что улучшение функции эндотелия предшествует регрессу структурных атеросклеротических изменений. Влияние на вредные привычки – отказ от курения – приводит к улучшению функции эндотелия [7]. Прием антиоксидантов (витамин E, C) способствует коррекции функции эндотелия и тормозит утолщение интимы сонной артерии [7, 8]. Физические нагрузки улучшают состояние эндотелия даже при сердечной недостаточности [8].

Улучшение контроля гликемии у пациентов с сахарным диабетом само по себе уже является фактором коррекции дисфункции эндотелия [9], а нормализация липидного профиля у пациентов с гиперхолестеринемией приводила к нормализации функции эндотелия [10], что значительно уменьшало частоту сердечно-сосудистых заболеваний.

Состояние данной проблемы на сегодняшний день указывает на необходимость исследований, направленных на изучение лекарственных средств, влияющих на функцию эндотелия, в частности, на эндотелийзависимую вазодилатацию сосудов и чувствительность эндотелия к ацетилхолину.

Цель настоящего исследования – выяснить влияние эналаприла на эндотелийзависимое расслабление изолированного кольца аорты крысы и чувствительность эндотелия к ацетилхолину.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты проводили на 26 препаратах изолированного кольца аорты крыс линии Вистар. Эксперименты на животных проводились в соответствии с требованиями Женевской конвенции «International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals» (Geneva, 1990) [11]. Каждому животному внутрибрюшинно вводили ге-

парин (500 ед/кг) и затем под уретановым наркозом (1 г/100 г веса тела) вскрывали грудную клетку, удаляли сердце, легкие, отпрепаровывали грудную аорту, иссекали ее фрагмент длиной 5–10 мм и помещали его в охлажденный до 4°C раствор Кребса-Хензеляйта. В охлажденном растворе фрагмент аорты тщательно очищали от жировой и соединительной ткани и лезвием вырезали кольцевой сегмент шириной 3 мм. Один конец кольцевого сегмента аорты жестко фиксировали, а другой прикрепляли к рычажку датчика силы F30 Type372 (HugoSachsElektronik, Германия). Приготовленный таким образом кольцевой сегмент аорты помещали в термостатируемую ванночку, заполненную раствором Кребса-Хензеляйта стандартного состава для изолированных сосудов pH=7,4 при температуре 37°C. Раствор насыщали карбогеном (95% O₂ и 5% CO₂) [6]. Регистрацию напряжения препарата, сокращающегося в изометрическом режиме, осуществляли при помощи модульного усилителя HSE. Данные заносили в компьютер и обрабатывали при помощи программы HSEACAD (Германия). В течение периода стабилизации, который составлял 2 часа, каждые 15 минут обновляли раствор Кребса-Хензеляйта, омывающий препарат аорты.

Исходное напряжение изолированных колец аорты во всех исследуемых группах составляло от 1918±91 до 2041±54 мг.

О чувствительности изолированного кольца аорты к ацетилхолину судили по величине EC₅₀, представляющей собой молярную концентрацию, вызывающую 50% ответную реакцию.

Состояние стимулируемой продукции монооксида азота эндотелием изолированного кольца аорты оценивали по величине реакции расслабления в ответ на кумулятивное введение в питательную жидкость ацетилхолина (от 10⁻¹¹ до 10⁻⁴ M, Sigma, США) на фоне предварительного сокращения, вызванного стандартной дозой фенилэфрина (10⁻⁶ M, Sigma, США). Результат выражали как процент расслабления от величины сокращения, полученной после введения фенилэфрина.

Для определения влияния эналаприла на эндотелийзависимое расслабление в термостатируемую ванночку с кольцевым сегментом аорты за 15 минут до его предсокращения фенилэфрином 10⁻⁶M (Sigma,

США) добавляли эналаприл в концентрации $0,526 \times 10^{-6}$ моль/л. Для этого использовали раствор для инъекций эналаприла, выпускаемый в ампулах по 1 мл, содержащий 1,25 мг/мл вещества («KRKA», Словения).

Для сравнения двух количественных признаков применялся t-критерий Стьюдента, а также использовали программное обеспечение GraphPadPrism (Сан-Диего, Калифорния, США) для непараметрической оценки результатов. Результаты эксперимента выражали как среднее арифметическое \pm ошибка средней величины: $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$. Различия принимали достоверными при значении вероятности ошибки $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Под влиянием фенилэфрина (10^{-6} М) прирост напряжения сегмента аорты в контроле составлял 1517 ± 115 мг, в группе животных с добавлением в ванночку с изолированным кольцом аорты эналаприла – 1487 ± 95 мг. Таким образом, исходные условия для действия ацетилхолина были одинаковыми.

Добавление в ванночку ацетилхолина (от 10^{-11} до 10^{-4} М) приводило к дозозависимому

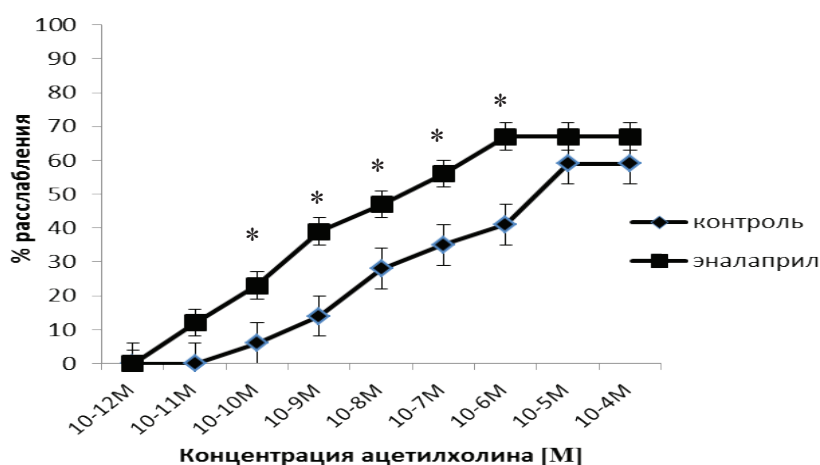
расслаблению кольца аорты, предварительно сокращенного фенилэфрином. В контрольных изолированных кольцах аорты дилатация начиналась при концентрации ацетилхолина 10^{-10} М и составила 6% от прироста напряжения, вызванного фенилэфрином. Максимальная дилатация возникала при концентрации ацетилхолина в ванночке 10^{-5} М и составляла 59% от предварительного сокращения фенилэфрином. Концентрация ацетилхолина, вызывающая полумаксимальную дилатацию кольца аорты (EC_{50}), составила $1,44 \times 10^{-7}$ М (таблица).

На фоне предварительного введения в ванночку с изолированным кольцом аорты эналаприла (7×10^{-6} г) ацетилхолинзависимая вазодилатация начиналась уже при концентрации ацетилхолина 10^{-11} М и составляла 12%. Максимальная дилатация изолированного кольца аорты возникала при концентрации ацетилхолина в ванночке 10^{-6} М и составляла 67%, что на 13% больше, чем в контрольной группе животных (рисунок).

Концентрация ацетилхолина, вызывающая полумаксимальную дилатацию кольца аорты (EC_{50}), после введения в

Таблица – Влияние эналаприла на концентрацию ацетилхолина, вызывающую полумаксимальную дилатацию кольца аорты

Группа животных	Вещества, добавляемые в перфузионный раствор	EC_{50} , М	CI 95% EC_{50} , М	Log EC_{50}
Контроль (n=13)	—	$1,44 \times 10^{-7}$	$1,32 \times 10^{-7} - 1,58 \times 10^{-7}$	$-6,84 \pm 0,01$
Эналаприл (n=13)	Эналаприл	$1,64 \times 10^{-8}$ *	$6,67 \times 10^{-9} - 1,64 \times 10^{-8}$	$-7,97 \pm 0,09$



* – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой животных

Рисунок – Влияние эналаприла на ацетилхолинзависимую вазодилатацию изолированного кольца аорты крысы

ванночку с изолированным кольцом аорты эналаприла снижалась по сравнению с контролем до $1,64 \times 10^{-8} \text{M}$ ($p < 0,05$), что свидетельствует о повышении чувствительности эндотелиоцитов к ацетилхолину.

Таким образом, в нашей экспериментальной работе показано, что эналаприл не только увеличивает эндотелийзависимое ацетилхолининдуцируемое расслабление изолированного кольца аорты, но и усиливает чувствительность эндотелиоцитов кольца аорты крысы к ацетилхолину, что может быть также связано с увеличением выработки эндотелиального монооксида азота.

В ранних исследованиях ингибиторов ангиотензинпревращающих ферментов показана высокая тропность липофильных средств, в частности эналаприла, к эндотелию сосудов [9, 10]. В дальнейшем были выделены следующие вазопротективные механизмы действия эналаприла:

1) уменьшение явлений эндотелиальной дисфункции за счет подавления вазоконстрикции и повышения выработки эндотелийрелаксирующего фактора монооксида азота;

2) антипролиферативное и антимиграционное действие в отношении гладкомышечных клеток, моноцитов и нейтрофилов;

3) антитромбоцитарный эффект;

4) усиление эндогенного фибринолиза [10].

Положительное влияние эналаприла на функционирование эндотелия сосудистой стенки посредством усиления синтеза NO и других эндотелиальных медиаторов, активируемых брадикинином, подтверждено во многих экспериментальных работах, а также у пациентов с ИБС. Показано, что на фоне приема эналаприла уменьшается толщина комплекса интима-медиа сонных артерий, которая признана независимым фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний и инсульта [7].

Основой одного из новых клинических направлений стал тезис о необходимости коррекции дисфункции эндотелия (т.е. нормализации функции эндотелия) как показателя адекватности антигипертензивной терапии. Эволюция задач гипотензивной терапии конкретизировалась не только до необходимости нормализации уровня артериального давления, но и нормализации функции эндотелия. Фактически это означает, что снижение артериаль-

ного давления без коррекции дисфункции эндотелия не может считаться успешно решенной клинической задачей [8].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В нашей экспериментальной работе было показано, что эналаприл не только увеличивает эндотелийзависимое ацетилхолининдуцируемое расслабление изолированного кольца аорты, но и усиливает чувствительность эндотелиоцитов кольца аорты крысы к ацетилхолину, что может быть связано с увеличением выработки эндотелиального монооксида азота.

SUMMARY

S. S. Skrinaus, S. S. Lazuko, O. P. Kuzel
EFFECT OF ENALAPRIL ON
ENDOTHELIAL-DEPENDENT
DILATATION OF ISOLATED AORTIC
RINGS AND THE SENSITIVITY OF THE
ENDOTHELIUM TO ACETYLCHOLINE

The aim of the study was to find out the effect of enalapril on endothelial-dependent vasodilatation of isolated aortic rings of rats and the sensitivity of the endothelium to acetylcholine. Experiments were performed on preparations of isolated aortic rings of Wistar rats. On the background of prior administration to the perfusive solution of enalapril ($7 \times 10^{-6} \text{ g}$) atsetilholine-dependent vasodilatation started at a low concentration of acetylcholine, a maximum vasodilatation expressed to a greater extent than in the control group of animals. The concentration of acetylcholine, causing half-maximal dilatation of aortic rings (EC_{50}) after the action of enalapril reduced compared with the control ($p < 0,05$), indicating increased sensitivity of endothelial cells to acetylcholine.

Keywords: enalapril, endothelium, nitric oxide.

ЛИТЕРАТУРА

1. Patel, S. T. Risk factors and their role in the diseases of the arterial wall / S. T. Patel, K. C. Kent // Semin. Vasc. Surg. – 1998. – Vol. 11, № 3. – P. 156–168.
2. Atkov, O. Y. Non-invasive ultrasound detection of endothelial dysfunction / O. Y. Atkov, T. V. Balahonova, O. A. Pogorelova // Eur. J. Ultrasound. – 1998. – Vol. 7, № 1. – P. 37–45.

3. Shear stress abnormalities contribute to endothelial dysfunction in hypertension but not in type II diabetes / Y. Kuder [et al.] // J. Hypertension. – 1998. – Vol. 16, № 11. – P. 1619–1625.

4. Endogenous and exogenous nitric oxide inhibits norepinephrine release from rat heart sympathetic nerves / P. Schwarz [et al.] // Circulat. Res. – 1995. – № 77. – P. 841–848.

5. Antoniucci, D. L. The vascular tree as an endocrine organ: Paracrine and autocrine effects of endothelin / D. L. Antoniucci, L. A. Fitzpatrick // Endocrinologist. L. – 1996. – № 6. – P. 481–487.

6. Лазуко, С. С. Роль индуцированной NO-синтазы в эндотелийзависимой регуляции тонуса артериальных сосудов при адаптации короткими стрессорными воздействиями / С. С. Лазуко, А. П. Солодков, К. А. Шилин // Вестник ВГМУ. – 2013. – Т. 12, № 4. – С. 44–49.

7. Мареев, В. Ю. Четверть века эры ингибиторов АПФ в кардиологии / В. Ю. Мареев // Русский медицинский журнал. – 2000. – № 8. – С. 15–16.

8. Сиренко, Ю. Н. Эналаприл в кардиологии и терапии: стандарт эффективности и безопасности среди ингибиторов АПФ //

Новости медицины и фармации. – 2011. – № 13. – С. 376–377.

9. Clozel, M. Mechanism of action of angiotensin converting enzyme inhibitors on endothelial function in hypertension / M. Clozel // J. Hypertension. – 1991. – Vol. 10, № 18. – P. 37–42.

10. Creager, M. A. Effects of captopril and enalapril on endothelial function in hypertensive patients / M. A. Creager, M. A. Roddy // Hypertension. – 1994. – Vol. 24, № 24. – P. 499–505.

11. Мишаткина, Т. В. Биомедицинская этика в документах / Т. В. Мишаткина. – Минск: Междунар. госуд. эколог. ун-т им. А. Д. Сахарова, 2008. – 34 с.

Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
УО «Витебский государственный
ордена Дружбы народов
медицинский университет»,
кафедра нормальной физиологии,
тел. раб.: 8(0212) 37-07-54;
e-mail: maiorova_ss@mail.ru,
Скринаус С. С.

Поступила 13.11.2014 г.

Н. В. Давишня, И. А. Зупанец, С. К. Шебеко

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КОМБИНАЦИИ ГЛЮКОЗАМИНА С КЕТОПРОФЕНОМ В ФОРМЕ КРЕМ-ГЕЛЯ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ СУСТАВНОГО ХРЯЩА

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

В статье представлены результаты изучения хондропротекторных свойств крем-геля глюкозамина с кетопрофеном в условиях моделирования системного стероидного артроза у крыс на основании состояния ультраструктуры хрящевой ткани. В качестве лекарственных средств (ЛС) сравнения были использованы глюкозамин в форме крем-геля и «Фастум гель». Под влиянием изучаемой комбинации зафиксировано усиление биосинтетических процессов в хондроцитах и нормализация структуры хрящевого матрикса.

Ключевые слова: глюкозамин, кетопрофен, крем-гель, остеоартроз.

ВВЕДЕНИЕ

Остеоартроз (ОА) – хроническое дегенеративно-дистрофическое заболевание суставов, характеризующееся прогрессирующей деструкцией суставного хряща, пролиферативной реакцией хрящевой и костной

тканей и сопровождающееся реактивным синовитом [1]. Распространенность остеоартроза в возрасте после 55 лет находится в диапазоне от 30% до 50% у мужчин и от 40% до 60% у женщин [2]. Остеоартрозом страдают около 90% населения в возрасте старше 65 лет [3], при этом более полови-